

EFEITO DO EXTRATO DE *Azadirachta indica* EM CARRAPATOS (*Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*)

Eliane Terassani¹

Haroldo José dos Santos¹

Indyara Duarte da Silva²

Bruna Karen Cardoso³

Silvia Graciele Hülse de Souza³

Zilda Cristiani Gazim³

TERASSANI, E.; SANTOS, H. J. dos; SILVA, I. D. da; CARDOSO, B. K.; SOUZA, S. G. H. de; GAZIM, Z. C. Efeito do extrato de *Azadirachta indica* em carrapatos (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, v. 15, n. 2, supl. 1, p. 197-200, 2012.

RESUMO: No Brasil, a principal espécie de carrapato que compromete a produtividade da pecuária bovina é *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Estes ácaros são hematófagos e podem comprometer a produção de carne e leite. Seu controle nas regiões tropicais representa um desafio devido à rápida proliferação e a resistência dos parasitas aos produtos convencionais, estimulando a busca por formas alternativas e menos tóxicas de controle. Esse estudo teve como objetivo verificar a eficácia do extrato das folhas de *Azadirachta indica*, *in vitro*, sobre os parâmetros reprodutivos de carrapatos na fase teleógina *R. (B.) microplus* em estágio final de ingurgitamento. As fêmeas foram coletadas em bovinos produtores de leite na região de Umuarama, Paraná, Brasil e os testes constituíram em expor o carrapato na fase teleógina ao extrato por 10 min, utilizando o teste de imersão. Verificou-se que o extrato de *A. indica* reduziu ($p \leq 0,05$) a taxa de eclosão dos ovos e aumentou a mortalidade das fêmeas em 30%. Apesar da baixa ação carrapaticida (14%), *A. indica* pode ser utilizada para reduzir a quantidade de carrapatos em um sistema de produção orgânica.

PALAVRAS-CHAVES: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; *Azadirachta indica*; Biocarrapaticidograma; Bovino leiteiro; Tratamento orgânico.

EFFECT OF *Azadirachta indica* EXTRACT ON *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*

ABSTRACT: In Brazil, the main tick species affecting cattle productivity is *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. These mites are hematophagous and may compromise the production of both meat and milk. Its control in tropical regions is a challenge due to its rapid proliferation and resistance to conventional products, stimulating the search for alternative and less toxic controls. This study aimed at verifying the effectiveness of the extract from the leaves of *Azadirachta indica*, *in vitro* on the reproductive phase of engorged female *R. (B.) microplus* in the final stages of engorgement. Females specimens were collected at cattle dairy producers in the region of Umuarama, Paraná, Brazil, and the tests consisted in exposing the engorged female ticks to the extract for 10 min, using an immersion test. The extract of *A. indica* reduced ($p \leq 0.05$) the hatching rate of the eggs and increased female mortality by 30%. This indicates that *A. indica* presents acaricide potential with partial efficacy (14%) in the control of this parasite in organic production systems.

KEYWORDS: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; *Azadirachta indica*; Biotickicide count; Dairy cattle; Organic treatment.

EFFECTO DEL EXTRACTO DE *Azadirachta indica* EN GARRAPATAS (*Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*)

RESUMEN: En Brasil, la principal especie de garrapata que afecta la productividad del ganado es *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Estos ácaros son hematófagos y pueden afectar la producción de carne y leche. Su control en las regiones tropicales constituye un desafío debido a su rápida proliferación y la resistencia de los parásitos a los productos convencionales, estimulando la búsqueda por formas alternativas y menos tóxicas de control. Ese estudio tuvo como objetivo verificar la eficacia del extracto de las hojas de *Azadirachta indica*, *in vitro*, sobre los parámetros reproductivos de garrapatas en la fase teleógina *R. (B.) microplus* en etapa final de ingurgitación. Las hembras fueron recogidas en bovinos productores de leche en la región de Umuarama, Paraná, Brasil y los ensayos consistieron en exponer la garrapata en la fase teleógina al extracto por 10 min, utilizando la prueba de inmersión. Se pudo constatar que el extracto de *A. indica* redujo ($p \leq 0.05$) la tasa de eclosión de los huevos y ha aumentado la mortalidad de las hembras en 30%. A pesar de la baja acción garrapaticida (14%), *A. indica* puede ser utilizada para reducir la cantidad de garrapatas en un sistema de producción orgánica.

PALABRAS CLAVE: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; *Azadirachta indica* Biogarrapaticidograma; Vacas lecheras; Tratamiento orgánico.

¹Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Paranaense – UNIPAR

²Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/UNIPAR

³Programa de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Instituto de Ciências Exatas, Agrárias, Tecnológicas e Geociências, Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, s/n, cx. p. 224, CEP 87502-210, Umuarama, PR, Brasil.

*Autor para correspondência: cristianigazim@unipar.br

Introdução

Os prejuízos causados pelos carrapatos à bovino-cultura brasileira podem ultrapassar um bilhão de dólares anualmente. Perdas diretas e indiretas relacionadas a essa parasitose foram estimadas em oito dólares por bovino ao ano (SILVA et al., 2007). Os principais danos estão relacionados à baixa conversão alimentar, perda de peso crônica, redução da produção de carne e leite, redução da qualidade do couro, lesões na pele que favorecem o desenvolvimento de miases, anemia e transmissão de patógenos tais como *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale* (ARENALIS, 2002; SANTOS; VOGEL, 2012).

A principal espécie de carrapato que compromete a pecuária bovina brasileira é *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Durante seu ciclo de vida todos os estágios, com exceção do ovo, devem obrigatoriamente parasitar a pele de um hospedeiro. Dessa forma, o controle deste ácaro busca interromper seu ciclo de vida na fase parasitária, empregando-se compostos químicos com atividade acaricida (LABRUNA, 2004).

O uso indiscriminado de produtos acaricidas propicia a seleção de populações de carrapatos resistentes aos principais grupos químicos (SILVA et al., 2007; FARIAS et al., 2008). A resistência de *R. (B.) microplus* aos carrapaticidas convencionais é relatada, sendo atribuída à recombinação de genes de resistência (VARGAS et al., 2003; SOUZA et al., 2004). Nesse contexto, a busca por métodos de controle alternativos para o carrapato, é uma área promissora de pesquisas e investimentos (ALVAREZ et al., 2008). A utilização de extratos vegetais, principalmente os produtos a base de plantas medicinais, tem se mostrado eficiente no controle de ectoparasitos e endoparasitos (PENELUC et al., 2004).

Azadirachta indica A. Juss, popularmente conhecida como Neen, é uma árvore da família Meliaceae que possui em sua composição aproximadamente vinte e quatro compostos químicos, dos quais quatro apresentam alta eficácia como pesticidas: Azadiractina, Salanina, Melantriol e Neenbina (SANTOS; ANDRADE, 2000; LORENZI et al., 2003).

Pesquisas conduzidas com o extrato dessa planta demonstraram elevada ação carrapaticida, tanto em larvas quanto em fêmeas adultas, e ação inseticida e de repelência contra mosquitos e moscas (ANDRADE; SANTOS, 2000; MARTINEZ, 2002). Os compostos extraídos a partir do Neen representam uma potencial alternativa no controle de artrópodes, uma vez que apresentam largo espectro de ação, não são tóxicos para plantas e humanos, além de não contaminarem o ambiente (ESCOSTEGUY, 2004; SILVA et al., 2007). Esses aspectos possibilitariam o uso destes compostos em sistemas orgânicos de criação de bovinos (VERÍSSIMO, 2004). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação carrapaticida do extrato de *A. indica* em *R. (B.) microplus* fêmeas em fase telegina ingurgitada pelo teste de imersão de adulto (TIA).

Material e Métodos

Material Vegetal

Folhas frescas de *A. indica* foram coletadas em fevereiro de 2007 em uma propriedade do município de Alto

Paraíso localizado no noroeste do estado do Paraná.

Extrato bruto

Amostras de folhas (n=5) foram mantidas em estufa à 35 °C até obtenção de massa constante (BRASIL, 1988). O material seco foi pulverizado em liquidificador para obtenção de granulometria com diâmetro médio menor que 800 µm. O pó obtido foi misturado com álcool 70% (1:5) e mantido no escuro por 21 dias sob agitação constante. O macerado obtido foi filtrado e o extrato armazenado (BRASIL, 1988).

Atividade carrapaticida

Foram coletadas 150 fêmeas ingurgitadas de carrapatos em bovinos leiteiros da região de Umuarama, Paraná, Brasil, que se encontravam há pelo menos 20 dias isentos de carrapaticidas.

Os carrapatos foram transportados para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Paranaense (UNIPAR), onde foram examinados e selecionados para comprovação da integridade morfológica. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: o grupo que recebeu extrato de *A. indica* e o grupo que recebeu álcool 70%.

Os carrapatos do grupo experimental foram mantidos imersos por 10 min no extrato de *A. indica* e para o grupo controle foi utilizado álcool 70% (SILVA et al., 2007). Os carrapatos foram secos em papel e mantidos em placas de Petri a 28 °C, com umidade a 78% por 14 dias para efetuarem postura. Após este período a massa de ovos foi determinada e transferida para tubos de ensaio em estufa a 28 °C, com umidade a 78% por 21 dias para eclosão das larvas. Após esse período as larvas foram mortas em éter sulfúrico e contadas com auxílio de lupa entomológica para determinação da taxa de eclosão dos ovos. Os tratamentos foram realizados em triplicata.

A partir dos dados da postura, da massa das fêmeas, da massa de ovos e do percentual de eclosão, foram calculadas a eficiência reprodutiva (ER) e a eficiência do produto (EP), segundo Drummond et al. (1973).

Análise estatística

A massa de fêmeas, a massa de ovos, o percentual de eclosão, a ER e a EP foram expressas em média ± erro-padrão das diferentes observações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os resultados dos tratamentos com o extrato de *A. indica* foram comparados com o controle (álcool a 70%) pela Análise de Variância (ANOVA) e a diferença entre as médias determinadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados referentes à eficácia do extrato *A. indica* encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Média (\pm erro padrão) da massa de carrapatos (g), da massa dos ovos (g) e da eclosão (%), eficiência reprodutiva (%) e eficiência do produto (%) dos tratamentos com extrato de *Azadirachta indica* e o controle com álcool a 70%.

Grupos	Massa dos carrapatos (g)	Massa dos ovos (g)	Eclosão (%)	Eficiência reprodutiva (%)	Eficiência do produto (%)
Álcool a 70%	0,208 \pm 0,007a ¹	0,103 \pm 0,006a	90% \pm 0,0002a	8,9 103	-
Extrato de <i>A. indica</i>	0,221 \pm 0,010a	0,121 \pm 0,008a	70% \pm 0,0002 b	7,6 103	14%

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Não houve diferença ($p \leq 0,05$) entre a massa dos ovos dos grupos analisados, indicando que o extrato de Neen não afetou a postura de ovos (Tabela 1). Em ambos os tratamentos todas as fêmeas que realizaram a postura, produziram ovos brilhantes e de coloração amarronzada, um indicativo de fertilidade. Broglio-Micheletti et al. (2009) também não observaram ação sobre a atividade ovarioestática e antiembriogênica do carrapato em bovinos ao utilizar o extrato etanólico das folhas de Neen.

Contudo, ao avaliar-se a taxa de eclosão, observou-se redução significativa no grupo tratado com extrato de *A. indica*, que provocou inibição de 30% na taxa de eclosão, enquanto o grupo controle apresentou 10% de inibição. Isso pode ser devido à Azadiractina, principal composto acaricida encontrado em *A. indica*. Em artrópodes, a Azadiractina inibe a biossíntese do hormônio protoracicotrópico (PTTH), impedindo a biossíntese de outros hormônios, o que impossibilita os passos normais da troca de tegumento (ecdise) e inibição da maturação dos ovos (AGUIAR-MENEZES, 2005).

Analisando-se a EP observou-se que a eficiência do extrato de *A. indica* foi de 14% (Tabela 1). Esses resultados são inferiores aos observados por Silva et al. (2008) que verificaram mais de 95% de eficácia com uso de solução alcoólica de extrato de Neen. Costa et al. (2008) ao avaliarem a eficácia do extrato hidroalcoólico das folhas secas do Neen a 20% em fêmeas ingurgitadas obtiveram eficácia de 32%. Em contrapartida Broglio-Micheletti et al. (2010) observaram que a eficácia do extrato hidroalcoólico obtido de folha e de semente de Neen a 2% foi de 2,38 e 38,49%, respectivamente. Broglio-Micheletti et al. (2009) utilizando sementes de *A. indica* e hexano e etanol como extratores obtiveram eficácia de 73% e 17%, respectivamente. Tais divergências se devem provavelmente aos diferentes diluentes, à forma de armazenamento e preparação dos extratos, a quantidade e a parte utilizada da planta, a época de colheita, o manejo do solo, entre outros (SANTOS; VOGEL, 2012).

O tratamento com o extrato de *A. indica* afetou ($p \leq 0,05$) a taxa de mortalidade das fêmeas (Tabela 2), evidenciando a ação do extrato dessa planta também nessa etapa do ciclo de vida do carrapato. Silva et al. (2008) analisaram o efeito de uma solução alcoólica preparada com formulação comercial a base de óleo de Neen sobre *R. (B.) microplus* e também observaram redução significativa da taxa de eclosão e aumento da mortalidade das fêmeas. Porém, esses resultados diferem dos observados por Silva et al. (2007) que verificaram a ação do Neen principalmente sobre a oviposição e fecundidade das fêmeas ingurgitadas, observando esterilidade parcial nesses artrópodes. Estudos em campo demonstraram que o uso de extrato aquoso de Neen reduziu de forma significativa a infestação de bovinos por carrapatos, resultados similares aos obtidos com produtos comerciais à base de abamectina (VALENTE et al., 2007).

Tabela 2: Taxa de mortalidade comparada entre os grupos tratados com extrato de *Azadirachta indica* e álcool a 70% (controle).

Grupo	Vivos	%	Mortos	%
Controle negativo	27	90	3	10
Extrato de <i>A. indica</i>	21	70	9	30

% relacionada taxa de mortalidade entre os grupos tratados com extrato de *Azadirachta indica* e álcool a 70% (controle).

Um produto químico comercial utilizado no controle de carrapatos será considerado de alta eficácia se eliminar mais que 95% dos carrapatos, de média eficácia entre 90-95% e de baixa eficácia menos de 90% (SANTOS; VOGEL, 2012). Porém, a maioria dos produtos comerciais polui o ambiente. Apesar da menor eficácia, o controle parcial obtido com o extrato de *A. indica* sugere um uso potencial no manejo da infestação por carrapatos em rebanhos considerados orgânicos, nos quais o uso de produtos a base de inseticidas comerciais é vedado.

Sugere-se que novos estudos sejam realizados utilizando-se formulações com diferentes concentrações do Neen, outras partes da planta como sementes, diferentes épocas de colheita, bem como outros diluentes e formas de extração.

Conclusão

O extrato de *Azadirachta indica* aumenta a mortalidade *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* fêmeas e reduz a taxa de eclosão dos ovos em 30%. Apesar da baixa ação carrapaticida (14%), *A. indica* pode ser utilizada para reduzir a quantidade de carrapatos em um sistema de produção orgânico.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Paranaense (UNIPAR).

Referências

- ÁLVAREZ, V. et al. Control in vitro de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 56, n. 1, p. 291-302, 2008.
- ANDRADE, C. F. S.; SANTOS, L. U. *Azadirachta indica* - A árvore do Neen e o controle de piolhos. Campinas: Instituto de Biologia, UNICAMP, 2000. 12 p.
- AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica:

Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Documentos, 205).

ARENALIS, M. C. Homeopatia em gado de corte. In: CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1., 2002, Corumbá. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. Disponível em: <www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt05.pdf>. Acesso em: 07 out. 2008.

BRASIL. **Farmacopéia brasileira**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F. et al. M. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 44-48, jan./mar. 2010.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F. et al. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 44-48, 2009.

COSTA, F. B. et al. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, supl. 1, p. 83-86, 2008.

DRUMMOND, R. O. et al. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 66, p. 130-133, 1973.

ESCOSTEGUY, A. Controle ecológico do carrapato. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, n. 137, p. 72, 2004.

FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, set. 2008.

LABRUNA, M. B. Vetores de microorganismos efeitos deletérios. **A hora veterinária**, Porto Alegre, n. 137, p. 63-65, 2004.

LORENZI, H. et al. **Árvores exóticas no Brasil**: madeiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. p. 233.

MARTINEZ, S. S. **O Neen: *Azadirachta indica* naturea**, usos múltiplos, produção. Londrina: Iapar, 2002. 141 p.

PENELUC, T. Efeitos in vitro de *Zanthoxylum rhoifolium* (laranjeira brava) sobre teleóginas *Boophilus*. **Revista brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 301-204.

SANTOS, L. U.; ANDRADE, C. F. ***Azadirachta indica* a árvore do Neen e o controle de piolhos**. Disponível em: <http://www.piolho.org.br/artigos/arvoredoneen.pdf>. Acesso em: 07 out. 2008.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F. Avaliação in vitro da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 712-716, 2012.

SILVA, F. F. et al. Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 2, n. 3, p. 1-8, 2008.

SILVA, W. W. et al. Efeitos do Neen (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acara: Ixodidae) no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 1-5, ago. 2007.

SOUZA, A. P. et al. Comparação da eficácia de carrapaticidas em testes a campo com o tempo de imersão “in vitro”. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 3, n. 2, p. 131-134, 2004.

VALENTE, M. et al. Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, p. 1341-1343, 2007.

VARGAS, M. S. Avaliação in vitro de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à Amitraz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 737-742, jul./ago. 2003.

VERÍSSIMO, C. J. **Controle biológico e alternativo do carrapato do boi**. São Paulo: APTA, 2004. 3 p.